

Détermination de la natrémie et de la kaliémie du bœuf par photométrie de flamme

THÈSE

présentée à la

FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 17 janvier 1961

pour obtenir le grade de DOCTEUR-VETERINAIRE

par

Jacques MOLLET

Né le 25 Septembre 1932 à SAUVAGNEY (Doubs)



Imprimerie Générale Lyonnaise
32, cours Gambetta, 32 - LYON

**DETERMINATION DE LA NATREMIE
ET DE LA KALIEMIE DU BŒUF
PAR PHOTOMETRIE DE FLAMME**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Détermination de la natrémie et de la kaliémie du bœuf par photométrie de flamme

THÈSE

présentée à la

FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 17 janvier 1961

pour obtenir le grade de DOCTEUR-VETERINAIRE

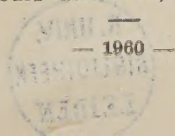
par

Jacques MOLLET

Né le 25 Septembre 1932 à SAUVAGNEY (Doubs)



Imprimerie Générale Lyonnaise
32, cours Gambetta, 32 - LYON



PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur	M. TAPERNOUX
Directeur honoraire	M. JUNG
Professeurs honoraires	M. DOUVILLE
	M. CUNY

PROFESSEURS

Physique et Chimie biologiques, Pharmacie, Toxicologie, Hygiène et Inspection du lait	M. TAPERNOUX
Anatomie descriptive, Anatomie appliquée	M. BARONE
Physiologie, Pharmacodynamie, Thérapeutique, Matière médicale	M. BOST
Histologie, Embryologie, Tératologie, Anatomie pathologique, Inspection des aliments d'origine animale	M. LUCAM
Zoologie appliquée, Botanique appliquée, Parasitologie	M. EUZEBY
Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale	M. COLLET
Propédeutique, Sémiologie et Pathologie des Monogastriques, des Oiseaux et Ruminants, Législation Vétérinaire	M. FLORIOT
Pathologie médicale du bétail et des Animaux de basse-cour	M. COTTEREAU
Pathologie de la reproduction, Obstétrique	M. BERTRAND
Pathologie générale et Microbiologie, Maladies légalement contagieuses et Police sanitaire	M. JOUBERT
Agronomie, Economie rurale, Zootechnie générale et génétique, Ethnologie, Hygiène, Alimentation	M. JEAN-BLAIN

CHEFS DE TRAVAUX

MM. MAGAT, FERNEY, FLACHAT, RUCKENBUCH : Agrégés

MM. BUSSIERAS, OUDAR, PAVOT

Assistants : VAN HAVERBEKE, CLAUDE

EXAMINATEURS DE THESE :

Président : M. CHAMBON

Premier Assesseur : M. TAPERNOUX

Deuxième Assesseur : M. COLLET

La Faculté de Médecine et l'Ecole Nationale Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A MA FAMILLE

A MES AMIS

A Monsieur le Professeur CHAMBON

Qui nous fait l'honneur d'accepter la
présidence du jury de notre thèse.

A Monsieur le Directeur TAPERNOUX

Avec l'expression de notre respectueuse
gratitude pour l'accueil qu'il nous a réservé
dans son laboratoire.

A Monsieur le Professeur COLLET

Hommage reconnaissant.

A Monsieur l'Agrégé MAGAT

Avec l'expression de notre reconnaissance
pour l'aide et les conseils qu'il nous a appor-
té dans l'élaboration de ce travail.

INTRODUCTION

Parmi les cations que l'on trouve dans le sang des animaux le sodium et le potassium tiennent une place prépondérante. Comme on peut le constater sur le tableau n° 1 où sont rassemblées les déterminations faites par Abderhalden (1), Oberst (2) et Raszeja (3), le sang total de l'homme et des espèces domestiques contient de 1,79 à 2,72 g. de sodium et 0,216 à 1,92 g. de potassium par litre.

TABLEAU I

Teneur du sang total, du plasma et des globules en sodium et en potassium.

(d'après Abderhalden, cité par Aron et Klinke, in Oppenheimer).

Espèce animale	sang		sérum ou plasma		hématies	
	g. p. 1000		g. p. 1000		g. p. 1000	
	K	Na	K	Na	K	Na
Homme	1,73	1,91	0,216	3,45	3,3 2	0,55 0,141 à 0,204 (2)
Lapin	1,75	2,05	0,216	3,30 2,54 (3)	4,34	0,52 (3)
Porc	1,92	1,79	0,224	3,16 3,70 (3)	4,12	0,215 (3)
Cheval	2,27	2,00	0,218	3,29	4,10	0,60 (3)
Mouton	0,337	2,71	0,212	3,19	0,617	1,67
Chèvre	0,328	2,65	0,204	3,21	0,564	1,61
Bœuf	0,338	2,69	0,212	3,20	0,600	1,65
Chien	0,212	2,71	0,202	3,17	0,226	2,10
Chat	0,216	2,72	0,218	3,29	0,214	2,01

(2) chiffres de Oberst, ceux de Raszeja oscillent entre 0,116 et 0,668 (estimation indirecte).

(3) Chiffres moyens de Raszeja.

Les deux autres cations rencontrés dans le sang en quantité non infinitésimale sont le calcium 0,1 g et le magnésium 0,02 g.

Il est habituel d'écrire que le sodium constitue le cation fondamental des liquides extracellulaires (il prédomine dans le plasma sanguin), tandis que le potassium est plus abondant à l'intérieur des cellules (hématies, cellules musculaires).

La membrane des globules rouges est considérée comme perméable à la fois aux ions Na et K et le maintien d'une concentration élevée en ions K à l'intérieur de la cellule, tandis que l'ion Na est rejeté à l'extérieur, est sous la dépendance d'un phénomène cellulaire actif et différent de la simple diffusion à travers une membrane.

Il résulte de ces constatations que la concentration en sodium et potassium du plasma sanguin est liée étroitement à l'activité des cellules des divers tissus et c'est la raison pour laquelle il devrait être intéressant au point de vue clinique de pouvoir suivre les modifications de la natrémie et de la kaliémie. On peut préciser dès maintenant que la natrémie et la kaliémie seront définies comme les concentrations en sodium et en potassium du plasma ou même du sérum (plasma et sérum peuvent être considérés comme identiques en première approximation en ce qui concerne leur teneur en éléments alcalins) et exprimées en grammes par litre ou encore en milliéquivalents par litre (mEq/l) : 1 mEq = 23 mg de sodium ou 39 mg de potassium.

De très nombreuses études ont été consacrées au métabolisme du sodium et du potassium qui jouent un rôle important :

— dans le maintien de la pression osmotique où ils sont étroitement liés au métabolisme de l'eau.

— dans le maintien de l'équilibre acide-base.

— dans le maintien de l'excitabilité neuro-musculaire (le potassium notamment).

— pour la perméabilité des membranes (rôle du potassium dans la pénétration du glucose à l'intérieur des cellules d'après Verzar).

Tous ces phénomènes ont fait l'objet d'une mise au point de Boulanger (4) en 1946. Mais depuis cette date l'intérêt porté aux éléments alcalins s'est accru par la démonstration des relations très étroites entre la glande cortico-surrénale et le métabolisme de l'eau et des éléments alcalins. Parmi les hormones de la glande surrénale, la corticostérone, la 11-désoxycorticostérone (D.O.C.) puis, plus ré-

cemment découverte, l'aldostérone sont indispensables pour assurer un métabolisme normal du sodium, du potassium et de l'eau (5).

En pathologie vétérinaire, notamment en pathologie bovine, les variations de la natrémie et de la kaliémie ne semblent pas avoir été étudiées de façon très complète. Ayant eu la possibilité de disposer d'un assez grand nombre de prélèvements de sang effectués sur de jeunes bovins en bon état de santé, nous avons pensé qu'il pouvait être intéressant de procéder à la détermination de la natrémie et de la kaliémie et apporter ainsi un certain nombre de données complémentaires sur les caractéristiques de sérum d'animaux normaux : la connaissance de ceux-ci sur le plan statistique paraissant indispensable pour pouvoir déterminer avec précision la « frontière » entre le normal et le pathologique.

Nous remercions Monsieur le Docteur Vétérinaire Fontaine (I.F. F.A.) qui a bien voulu nous remettre les échantillons étudiés.

Les déterminations auxquelles nous avons procédé ont été conduites suivant une méthode relativement nouvelle, la spectrophotométrie de flamme, particulièrement intéressante pour l'étude des métaux alcalins.

C'est pourquoi nous avons consacré un chapitre à la technique proprement dite, dans notre travail de thèse dont le plan est le suivant :

PLAN DE LA THESE

Introduction.

I - Natrémie et kaliémie du bœuf

- 1) Méthodes précédemment utilisées.
- 2) Résultats.
- 3) Variations physiologiques et pathologiques.

II - La spectrophotométrie de flamme

- 1) Généralités.
- 2) Appareillage.
- 3) Méthodes.

III - Recherches personnelles

- 1) Préparation des échantillons.
- 2) Préparation des solutions standard.
- 3) Conduite des mesures.
- 4) Résultats.
- 5) Précision des mesures.
- 6) Commentaires.

IV - Conclusions

Nous exprimons nos sentiments de profonde gratitude à Monsieur le Directeur Tapernoux, qui nous a permis de disposer de son laboratoire.

Nous remercions aussi Monsieur l'Agrégé Magat et Mademoiselle Gonnet, Ingénieur-chimiste, pour les conseils et l'aide précieuse qu'ils ont bien voulu nous donner tout au long de la réalisation de ce travail.

CHAPITRE I

NATREMIE ET KALIEMIE DU BŒUF

1) Méthodes précédemment utilisées.

Le dosage des éléments alcalins a toujours constitué une difficulté importante en chimie analytique et, si l'on dispose maintenant de méthodes de dosage chimique précises, elles n'en sont pas moins laborieuses : ce fait explique peut-être le petit nombre de déterminations qui ont été faites sur le sang du bœuf.

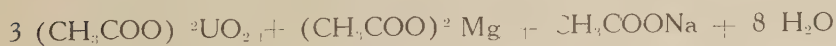
Au cours de nos recherches bibliographiques, nous n'avons retrouvé qu'un nombre limité de publications consacrées à la détermination de la natrémie et de la kaliémie chez le bœuf. Ce sont celles de Abderhalden, Oberst, Raszeja (voir tableau 1), celles de Wise et coll. (6) et surtout Kohl, dans une importante thèse de doctorat de pharmacie intitulée : Etude comparée de la composition chimique du sang des mammifères domestiques et de laboratoire (7).

Il ne paraît pas inutile de rappeler brièvement le principe des techniques chimiques utilisables pour la détermination de la natrémie et de la kaliémie.

NATREMIE :

La méthode de Kahane (8) la meilleure semble-t-il, consiste à précipiter le sodium en milieu hydro-alcoolique sous forme d'acétate triple d'uranyle de magnésium et de sodium (sel de Streng).

On lui attribue la formule :



P. M. 1532 — 1 g. correspond à 15 mg. de sodium.

Ce sel de Streng peut être déterminé :

1) pondéralement après incinération et transformation en un sel de formule :



dont un gramme correspond à 24,74 mg. de sodium.

2) par colorimétrie grâce à la coloration brune donnée par les sels d'uranyle en présence du ferrocyanure de potassium.

KALIEMIE :

Il existe deux méthodes principales utilisables.

La première consiste à précipiter le potassium sous forme de cobaltinitrite de potassium et de sodium :



Ce sel complexe peut être dosé par plusieurs procédés, notamment par la méthode gazométrique de Marc Chambon (9) qui consiste à mesurer le volume d'azote nitreux dégagé sous l'action de l'acide sulfamique.

La seconde, plus récente en date, consiste à précipiter le potassium sous forme de tétraphényl borate de potassium $(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{BK}$ P.M. 358 que l'on détermine ensuite par pesée (10).

Le dosage du sodium et du potassium dans le sérum exige en principe une minéralisation préalable et la plupart des auteurs ont procédé par incinération à température aussi basse que possible (moins de 600°) en raison de la volatilité des chlorures alcalins.

2) Résultats :

Les résultats des mesures systématiques effectuées par Kohl méritent à notre avis d'être particulièrement développés en raison du nombre important de sujets sur lesquels il a effectué ses déterminations. Pour le sodium, Kohl a suivi la méthode pondérale de Kahane et pour le potassium, la méthode gazométrique de Chambon.

Nous pensons qu'il n'est pas inutile de reproduire les résultats tels qu'ils ont été indiqués par l'auteur lui-même ; nous les avons com-

plétés par la traduction des concentrations en milliéquivalents (mEq) par litre et par le calcul pour chaque distribution de l'écart-type correspondant.

TABLEAU II
Sodium chez les bovins pour 1 litre de sérum.

	sexe	Age en ans	Poids en kg	en g.	en mEq
ANIMAUX D'ABATTOIR	Taureau	2 1/2	684	3,725	162
	—	3 1/2	710	3,691	160,4
	—	3 1/2	648	3,799	165
	—	4	854	3,508	152,5
	—	2	480	3,394	147,5
	Bœuf	1 1/2	304	3,420	148,7
	—	8	734	3,570	155,2
	—	7	486	3,610	157
	—	2	554	3,600	156,5
	Vache	hors d'âge	524	3,630	157,8
	Vache sans lait	3	498	3,423	148,8
	Génisse	2	482	3,252	141,3
	Moyenne :			3,551	154
ANIMAUX DE LABORATOIRE	Maximum :			3,799	165
	Minimum :			3,252	141,3
	Taureau	2	550	3,559	154,7
	—	3	638	3,430	149
	Bœuf	6	735	3,508	152,5
	Vache laitière	6	465	3,591	156
	Vache sans lait	4	585	3,445	149,8
	Génisse	2	470	3,558	154,7
	—	1 1/2	260	3,573	155,3
	—	2	247	3,501	152,2
	Vache	5	500	3,610	157
	Moyenne :			3,530	153,4
	Maximum :			3,610	157
	Minimum :			3,430	149
Moyenne générale :				3,556	
Ecart type (pour l'ensemble des 21 bovins)				0,121	

TABLEAU III

Potassium chez les bovins pour 1 litre de sérum

Sexe	Age en ans	Poids en kg.	en mg.	en mEq
Taureau	3	860	170	4,36
—	3	750	170	4,36
—	3	810	210	5,38
—	5	780	169	4,33
—	5	456	161	4,15
—	3	414	195	5,00
Bœuf	5	680	189	4,92
—	4	680	230	5,90
—	7	870	154	3,94
—	5	664	167	4,28
—	5	734	167	4,28
Moyenne :			180	4,62
Maximum :			230	5,90
Minimum :			154	3,94
Ecart type :			22,3	

3) Variations physiologiques et pathologiques.

Ces variations ne semblent pas avoir été étudiées de façon systématique chez le bœuf alors qu'elles ont fait en clinique humaine l'objet de recherches importantes (11 et 12).

Cependant la variation des électrolytes du sang (dont le sodium et le potassium sont les représentants quantitativement les plus importants) a été étudié au cours des affections digestives et notamment au cours des diarrhées des veaux (13 - 14 - 15). Nous ne développerons pas ces questions puisque notre but est d'apporter des éléments à la connaissance de la natrémie et de la kaliémie normales.

Il nous paraît utile de signaler ici les études portant sur les variations de ces concentrations en fonction de l'âge des sujets. D'après

un travail relativement récent de G. H. Wise et ses collaborateurs (6), la natrémie diminue assez notablement (10 % de sa valeur initiale) dans les premiers jours de la vie pour se fixer définitivement au voisinage du 15ème jour ; la kaliémie par contre ne présente pas de variations significatives comme le montre le tableau IV emprunté à la publication de G. H. Wise.

TABLEAU IV

Age des veaux (en jours)	Natrémie (g/l)	Kaliémie (g/l)
0	3480 + ou — 80	230 + ou — 7
1	3720 + ou — 94	250 + ou — 8
2	3720 + ou — 86	240 + ou — 5
3	3690 + ou — 102	230 + ou — 5
7	3520 + ou — 86	240 + ou — 3
14	3460 + ou — 60	220 + ou — 3
21	3560 + ou — 83	220 + ou — 6
28	3620 + ou — 73	220 + ou — 4
35	3520 + ou — 52	220 + ou — 5
42	3500 + ou — 60	210 + ou — 3
56	—	220 + ou — 4
70	—	220 + ou — 6

CHAPITRE II

LA SPECTROPHOTOMETRIE DE FLAMME

1) Généralités

En introduisant dans la flamme d'un mélange gazeux convenable une solution contenant des sels de certains métaux (plus de 25), on obtient l'émission d'un spectre de flamme caractéristique dont l'étude peut être utilisée à des fins analytiques pour déterminer la nature de ces éléments et leur concentration.

Le premier appareil fut utilisé en 1910. De 1938 à 1943 apparurent les premiers appareils commerciaux à filtres et à cellules photo-électriques au césium.

Depuis Lundegardh, de nombreux travaux furent effectués (16). C'est actuellement une technique usuelle du laboratoire d'analyse.

Principe des appareils :

La flamme est produite par combustion d'un mélange acétylène-air ou propane-air dans un bec type Meker. La solution étudiée est pulvérisée à débit constant dans le mélange gazeux. La lumière produite par la flamme est analysée soit par transmission à travers des filtres sélectifs soit par un monochromateur à prisme. Elle est reçue sur une cellule photo-électrique dont le courant est transmis à un galvanomètre fonctionnant dans des conditions telles que la déviation observée soit proportionnelle à l'intensité lumineuse dans le domaine de longueur d'onde sélectionné. La réponse est donc finalement proportionnelle à la concentration de la solution utilisée en l'élément dont la raie ou la bande d'émission est reçue par la cellule photoélectrique.

Etant donné que le spectre d'émission d'un élément est une propriété atomique, il est en principe indépendant des combinaisons chi-

miques dans lesquelles l'atome se trouve engagé : avantage considérable puisqu'il permet d'effectuer des dosages sans séparation chimique préalable et ne nécessite qu'une mise en solution des échantillons.

Il est évident que l'émission caractéristique de l'élément à analyser réparti dans la flamme se trouve superposé à un fond lumineux (fond de flamme) qui résulte d'une part des radiations émises par la flamme elle-même, d'autre part des raies ou bandes émises sur la même longueur d'onde par d'autres éléments de la solution. L'analyse n'est réellement possible que si ce fond de flamme est éliminé par un artifice de construction de l'appareil (réglage du zéro sur le fond de flamme obtenu avec de l'eau pure ou mieux avec une solution artificielle identique à la solution à étudier mais ne contenant pas l'élément à doser).

De plus, et malheureusement, car il s'agit d'un phénomène souvent très gênant, il existe des possibilités d'interférences des éléments les uns sur les autres à la suite d'une interaction au cours du processus d'excitation. Ces interférences qui se traduisent par un renforcement ou une diminution dans l'intensité des raies ou bandes caractéristiques doivent être connues : les erreurs introduites peuvent être éliminées par un certain nombre d'artifices de mesures simples dont nous signalerons plus loin les principes.

2) Appareillage utilisé.

Nous avons disposé d'un appareil UNICAM SP 900, appareil à monochromateur.

Le brûleur est alimenté par un mélange acétylène-air (pour nos mesures) ou propane-air au choix. La solution à analyser est pulvérisée à raison de 3 ml. par minute sous forme de brouillard très fin dans l'air alimentant le brûleur.

La lumière de la flamme pénètre dans un monochromateur à prisme dont les fentes d'entrée et de sortie sont simultanément réglables de 0 à 2 mm.

La radiation de longueur d'onde sélectionnée par le monochromateur est ensuite entrecoupée régulièrement au rythme de 100 périodes par seconde et reçue sur un photomultiplicateur fonctionnant dans le domaine de 250 à 850 m μ .

Le courant fourni par le photomultiplicateur est ensuite amplifié puis redressé et, après passage dans un certain nombre de filtres élec-

triques destinés à éliminer les « bruits de fond », reçu par un galvanomètre dont le spot se déplace devant une échelle comportant 100 divisions.

3) Méthodes.

a) Fonctionnement.

Après réglage du mélange gazeux aux pressions convenables, la flamme est allumée et l'appareil fonctionne avec de l'eau distillée. On fixe ensuite la longueur d'onde correspondant à l'élément à doser par réglage du bouton de commande du monochromateur. On choisit enfin une largeur de fente et une amplification (gain) telles qu'en remplaçant l'eau distillée par la solution à doser, on obtienne une déviation du galvanomètre voisine de 50 divisions. Toute détermination doit être précédée de l'établissement préalable d'une courbe d'étalonnage, à l'aide de solutions à diverses concentrations de l'élément étudié : par dilution convenable de l'échantillon on se place dans un domaine de concentration tel que cette courbe d'étalonnage soit une droite à laquelle il suffit de se rapporter pour lire directement la concentration de l'échantillon.

b) Interférences.

Les divers éléments contenus dans les solutions peuvent naturellement influencer le processus d'excitation de chacun d'eux de telle sorte que les raies d'émission d'un élément donné que l'on se propose de doser par exemple ont leur intensité accrue ou diminuée par la simple présence dans la solution d'autres éléments, sans que ceux-ci présentent eux-mêmes une émission notable à la longueur d'onde étudiée. Par exemple la présence de sodium, dont le spectre de flamme présente un doublet très intense vers $589\text{ m}\mu$, renforce généralement l'émission de potassium à $768\text{ m}\mu$: ainsi (16) une solution contenant 0,5 mEq de potassium par litre soit 19,5 mg présente une émission augmentée de :

9 %	si la solution contient aussi	2,5 mEq de Na par litre
16 %	—	10 —
25 %	—	20 —
28 %	—	25 —
40 %	—	50 —
85 %	—	200 —
190 %	—	1000 —
260 %	—	2000 —

Dans le sérum sanguin contenant en moyenne :

Na	154	mEq par litre
K	4,62	mEq par litre

et après dilution au 1/10, le rapport est d'environ 40 ce qui laisse prévoir en première approximation une augmentation d'environ 40 % de l'émission mesurée à 768 mμ, par la simple présence de sodium.

Pour éliminer les erreurs dues à de telles interférences il existe trois procédés :

— L'utilisation de solution de référence contenant, outre des quantités variables de l'élément à doser, tous les autres éléments gênants à la concentration moyenne où ils existent dans l'échantillon. Ainsi pour doser le potassium dans le sérum sanguin, les solutions d'étalonnage contiendront-elles du sodium, du magnésium et du calcium aux concentrations moyennes déjà connues.

— Dans certains cas, il existe un domaine de concentrations défini par une limite supérieure et une limite inférieure où l'interférence demeure constante et indépendante de la concentration en l'élément gênant. On peut alors ajouter aux solutions à doser et aux solutions d'étalonnage la quantité suffisante d'élément interférant pour se placer dans le domaine d'interférence constante. Mais il convient de déterminer préalablement avec soin les limites de ces domaines.

— Avec la méthode de l'addition standard, on peut passer de l'établissement de la courbe d'étalonnage, à condition toutefois d'avoir vérifié que la concentration de l'élément à doser dans la solution inconnue appartient à un domaine où la réponse de l'appareil varie linéairement avec la concentration.

Soit X la concentration de la solution inconnue (exprimée par exemple en p.p.m.). A la longueur d'onde caractéristique, le galvanomètre présente une déviation D₁. En ajoutant à la solution inconnue une quantité connue S (en p.p.m.) de l'élément à doser, la déviation devient D₂. La réponse linéaire permet d'écrire :

$$A. \quad \frac{X}{X+S} = \frac{D_1}{D_2} \text{ d'où l'on pourrait tirer X. Mais il faut}$$

tenir compte aussi du fond de flamme c'est-à-dire des radiations émises sur la longueur d'onde λ choisie pour les autres éléments de la solution. Pour calculer la déviation D_m due à ce fond de flamme, on

effectue une mesure sur la solution inconnue à deux longueurs d'onde $\lambda + d\lambda$ et $\lambda - d\lambda$ avec $d\lambda = 3$ ou $4 \text{ m}\mu$. La moyenne D_m des deux mesures donne par interpolation la valeur du fond de flamme pour la longueur d'onde λ . La relation précédente devient alors :

$$\text{B.} \quad \frac{X}{X+S} = \frac{D_1 - D_m}{D_2 - D_m} \text{ d'ou } X = \frac{S (D_1 - D_m)}{D_2 - D_1}$$

Il faut évidemment que D_m soit faible par rapport à D_1 pour

que l'application de cette formule soit valable, $D_m < \frac{D_1}{50}$

On peut aussi par des séparations physiques (passage sur résine échangeuse d'ions) ou chimiques obtenir une solution de l'élément à l'état presque pur ou tout au moins débarassée des ions gênants. Mais ces séparations sont souvent laborieuses et enlèvent à la méthode par spectrophotométrie de flamme son intérêt principal : la simplicité d'une analyse dispensée des manipulations de chimie préparatoires.

CHAPITRE III

RECHERCHES PERSONNELLES

1) Préparation des échantillons.

Les dosages ont été réalisés sur le sang de 32 bovins mâles, de race normande, âgés de 8 à 16 mois, maintenus à cette époque en stabulation permanente et nourris exclusivement de foin de prairie.

Les prises de sang portaient sur 20 ml. environ. Elles étaient recueillies dans des tubes soumis à la centrifugation dès que la coagulation était réalisée. Le sérum était prélevé immédiatement et conservé au réfrigérateur jusqu'au moment des analyses. Pour le dosage proprement dit, on prélevait 2 ml. de sérum que l'on diluait jusqu'à 50 ml. dans une fiole jaugée (dilution n° 1 au 25ème). 5 ml. de cette dilution n° 1 étaient dilués de la même façon à 50 ml. (dilution n° 2 au 125ème) pour le dosage du potassium. Enfin pour le dosage du sodium, 10 ml. de la solution n° 2 étaient portés à 100 ml. (dilution n° 3 au 1250ème).

2) Préparation des solutions standard.

L'étalonnage de l'appareil a été réalisé avec quatre solutions standard contenant, outre des quantités croissantes de chaque élément à doser, une concentration constante des autres ions égale à la concentration moyenne habituellement rencontrée, à savoir :

Sodium	3540 mg par litre
Potassium	180 mg par litre
Magnésium	20 mg par litre
Calcium	96 mg par litre
Phosphore (sous forme d'ions PO_4H^{--})	81 mg par litre

Ainsi pour le dosage du sodium, on a préparé les quatre solutions dénommées Na (0), Na (1/2), Na (1), Na (2), contenant respec-

tivement 0, 1770, 3540 et 7080 mg de sodium par litre sous forme de ClNa , les autres éléments, potassium, magnésium, calcium et phosphore étant présents dans les quatre solutions aux concentrations constantes indiquées plus haut.

Pour le potassium on a préparé de façon analogue quatre solutions K (0), K (1/2), K (1), K (2) contenant 0, 90, 180 et 360 mg de potassium, les quatre autres éléments sodium, magnésium, calcium et phosphore étant apportés aux concentrations moyennes indiquées.

Ces solutions standard peuvent être facilement obtenues à partir des solutions de base 1 à 7 en procédant comme il est indiqué dans le tableau V. Ces solutions standard doivent au moment des mesures

être diluées au même taux que le sérum soit au $\frac{1}{1250}$ pour le dosage

du sodium et au $\frac{1}{125}$ pour le dosage du potassium.

TABLEAU V

Solutions étalons pour le dosage du sodium et du potassium dans le sérum sanguin par photométrie de flamme.

Le sérum est dilué à 1/V (c'est-à-dire 1/1250 pour Na et 1/125 pour K).

Solutions de base :

1 — Cl Na	18,016 g pour 1 l. soit 7,080 g en Na
2 —	solution 1 diluée au 1/2
3 —	solution 2 diluée au 1/2
4 — Cl K	0,686 g pour 1 litre soit 360 mg en K
5 —	solution 4 diluée au 1/2
6 —	solution 5 diluée au 1/2
7 — $\text{PO}_4 \text{ H Am}_2$	0,345 g pour 1 litre soit 81 mg en P
$\text{Cl}_2 \text{ Ca}, 2 \text{ H}_2\text{O}$	0,438 g pour 1 litre soit 96 mg en Ca
$\text{Cl}_2 \text{ Mg}, 6 \text{ H}_2\text{O}$	0,169 g pour 1 litre soit 20 mg en Mg

Solutions standard :

Na (0)	solution 5	2 ml	K (0)	solution 2	2 ml
	— 7	2 ml		— 7	2 ml
	eau Q.S.	2 V		eau Q.S.	2 V
Na (1/2)	solution 3	2 ml	K (1/2)	solution 6	2 ml
	— 5	2 ml		— 2	2 ml
	— 7	2 ml		— 7	2 ml
	eau Q.S.	2 V		eau Q.S.	2 V
Na (1)	solution 2	2 ml	K (1)	solution 2	2 ml
	— 5	2 ml		— 5	2 ml
	— 7	2 ml		— 7	2 ml
	eau Q.S.	2 V		eau Q.S.	2 V
Na (2)	solution 1	2 ml	K (2)	solution 4	2 ml
	— 5	2 ml		— 2	2 ml
	— 7	2 ml		— 7	2 ml
	eau Q.S.	2 V		eau Q.S.	2 V

3) Conduite des mesures.

Par essais successifs on détermine les positions de réglage nécessaires pour que les indications du galvanomètre obtenues avec les quatre solutions standard relatives à l'élément à doser soient proportionnelles aux concentrations, ce que l'on vérifie rapidement en construisant la courbe des déviations du galvanomètre en fonction des concentrations des solutions standard, elles-mêmes proportionnelles aux nombres 0, 1/2, 1 et 2.

Nous indiquons ci-après les positions de réglage choisies avec notre appareil :

	Na	K
longueur d'onde	587,2 m μ	776 m μ
pression d'air	22 psi (1,593 Kg/cm ²)	21 psi (1,520 Kg/cm ²)
pression d'acétylène	45,7 g/cm ²	45,7 g/cm ²
largeur de fente	0,023 mm	0,08 mm
écran de verre neutre		
amplification minimum		

NOTA. — 1 p.s.i. = 1 pound per square centimeter = 72,4 g/cm².

Lorsque, après un temps de chauffage d'environ 1/2 heure, les réponses de l'appareil demeurent constantes pour chaque point de référence, on présente successivement les solutions à analyser et on note les déviations correspondantes. De temps en temps, toutes les 10 mesures, soit environ toutes les 5 minutes, il est nécessaire de vérifier que la réponse de l'appareil n'a pas varié par exemple en contrôlant le point zéro et le point correspondant à la solution standard dont la concentration se rapproche le plus des valeurs trouvées, en l'occurrence la solution Na (1) ou K (1).

Lorsque l'expérimentateur a à sa disposition les solutions standard, les sérums dilués et l'appareil réglé prêt aux mesures, il lui est facile de réaliser plus d'une détermination par minute. Le calcul des concentrations se fait aisément en se reportant à la droite d'étalonnage.

4) Résultats.

Chacun des animaux ayant fait l'objet de 2 à 5 prises de sang, espacées entre le 3 décembre 1958 et le 10 mars 1959, nous avons pu procéder à 262 analyses dont les résultats ont été rassemblés dans les tableaux VI et VII. De plus nous avons calculé pour chaque ani-

Natrémie

mal le rapport ————— des moyennes des valeurs correspondantes

Kaliémie

aux diverses prises de sang d'un même animal (voir tableau VIII).

Enfin pour donner à l'ensemble de ces résultats une présentation plus propice aux considérations d'ordre statistique nous avons construit les histogrammes relatifs aux 131 déterminations de natrémie ou de kaliémie. Suivant l'habitude les données numériques ont été groupées en classes, l'intervalle de classe valant 50 mg de sodium et 5 mg de potassium. Chaque classe contient sa limite inférieure et exclut sa limite supérieure. Une échelle parallèle en mEq a été dressée.

TABLEAU VI

Natrémie en gramme par litre de sérum

Prise de sang	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	Moyennes
Animal	(3-12-58)	(18-12-58)	(8-1-59)	(11-2-59)	(10-3-59)	
1		3,47	3,50	3,22	3,90	3,51
2	3,26	3,26	3,47	3,50		3,37
3	3,22	3,30	3,33	3,23	3,54	3,33
5		3,26		3,36	3,33	3,32
6	3,33	3,36	3,15	3,19		3,26
7	3,15	3,26	2,87	3,40	2,94	3,12
8		3,22		2,90	2,80	2,97
9	3,01	2,94	3,12	3,01	3,05	3,02
10	3,12	3,19	3,04	3,22	3,22	3,16
11		3,01	3,08	3,18	3,15	3,11
12			3,18	3,15	2,94	3,09
13	3,22	3,26	3,36	3,36	3,36	3,32
14		3,29		3,40	3,22	3,30
15	3,33	3,33	3,33	3,26	3,50	3,35
16		3,26	3,29	3,33	3,43	3,33
17			3,47	3,68	3,47	3,54
18			3,47		3,50	3,49
19	3,54	3,50	3,50	3,50		3,51
20	2,72	2,96	3,05	2,90	2,83	2,89
21	2,87	2,99	2,96	3,02	2,95	2,96
22		3,03	3,03	3,18	3,10	3,08
23	2,91	3,22	3,06	3,14	2,89	3,04
24	3,06	3,14	3,06	2,99	3,06	3,06
25	2,99	3,06		3,06	3,06	3,04
26	3,18	3,06	3,03	3,18	3,14	3,12
28	3,14	3,14	3,34	3,82	3,26	3,34
29	3,38	3,44	3,62	3,30	3,24	3,40
30	3,88	3,54		3,26	3,22	3,50
31	3,14		3,30	3,14	3,24	3,21
32	3,18		3,18	3,46		3,27
33	3,22			3,22	3,18	3,21
34	3,14		3,22		3,22	3,20
Moyennes	3,18	3,22	3,23	3,25	3,20	3,23
Maximum						3,90
Minimum						2,72
Ecart type						0,21

NOTA : De la définition de l'écart type il résulte que 95 % des observations sont comprises entre 2,81 et 3,64 g/l. (3,23 + ou — 2 x 0,21).

TABLEAU VII

Kaliémie en gramme par litre de sérum

Prise de sang	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	Moyennes
Animal	(3-12-58)	(18-12-58)	(8-1-59)	(11-2-59)	(10-3-59)	
1		0,208	0,216	0,194	0,224	0,210
2	0,167	0,181	0,208	0,204	0,192	0,190
3	0,200	0,200	0,228	0,212	0,208	0,210
5		0,192		0,220	0,183	0,198
6	0,179	0,163	0,208	0,204		0,188
7	0,188	0,232	0,202	0,208	0,224	0,211
8		0,212		0,216	0,208	0,212
9	0,212	0,208	0,212	0,204	0,216	0,210
10	0,228	0,226	0,224	0,220	0,200	0,220
11		0,205	0,212	0,220	0,204	0,210
12			0,192	0,190	0,179	0,187
13	0,183	0,196	0,210	0,218	0,220	0,205
14		0,200		0,192	0,187	0,193
15	0,214	0,204	0,194	0,212	0,196	0,204
16		0,205	0,179	0,200	0,196	0,195
17			0,200	0,204	0,192	0,198
18			0,187		0,152	0,170
19	0,203	0,182	0,195	0,189		0,192
20	0,189	0,170	0,183		0,183	0,181
21	0,224	0,203	0,207	0,222	0,222	0,216
22		0,274	0,201	0,218	0,251	0,236
23	0,238	0,238	0,216	0,195	0,226	0,222
24	0,205	0,172	0,201	0,182	0,201	0,194
25	0,183	0,183		0,189	0,197	0,193
26	0,177	0,183	0,191	0,201	0,169	0,184
28	0,192	0,196	0,187	0,200	0,192	0,193
29	0,204	0,200	0,183	0,179	0,200	0,193
30	0,185	0,198		0,187	0,179	0,187
31	0,196		0,176	0,183	0,208	0,191
32	0,228		0,210	0,208		0,215
33	0,220			0,212	0,196	0,209
34	0,200		0,192		0,163	0,185
Moyennes	0,205	0,201	0,200	0,203	0,199	0,202
Maximum						0,274
Minimum						0,152
Ecart type						0,018

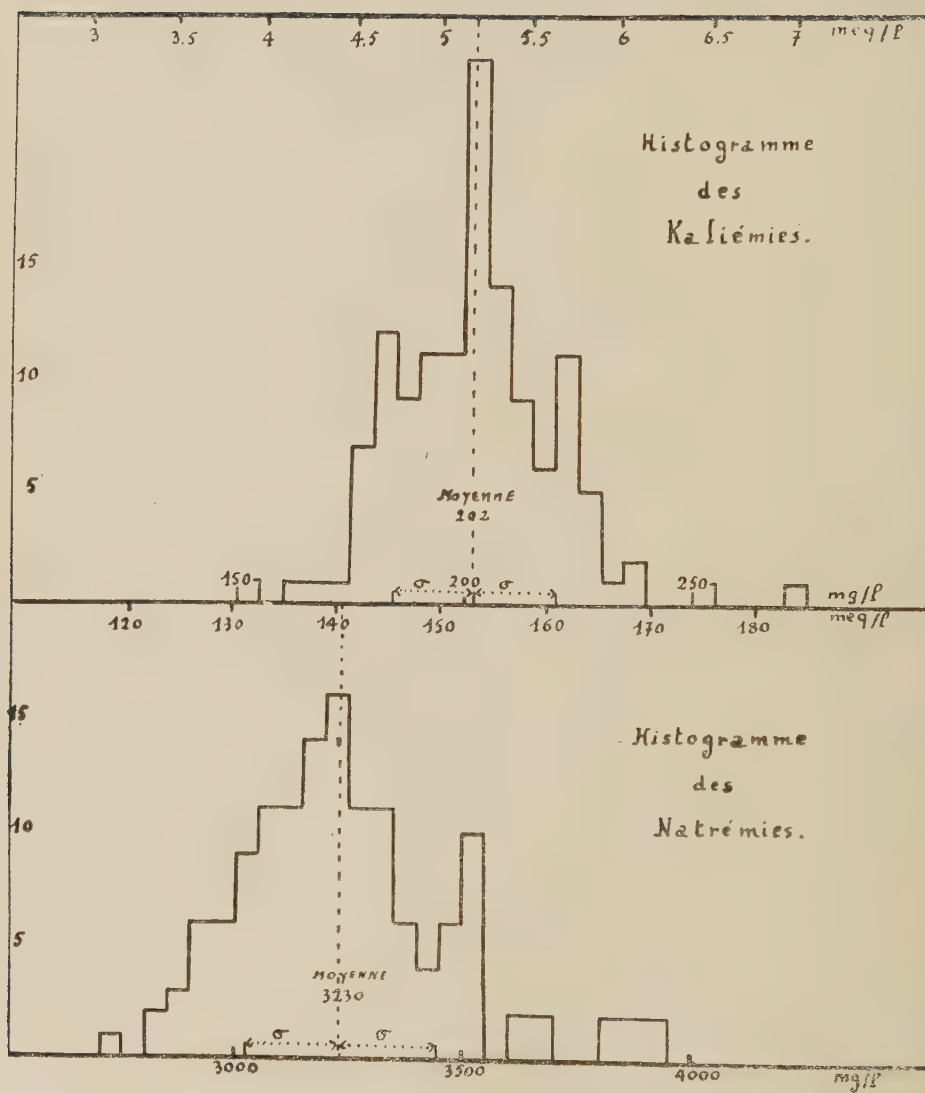
NOTA. : De la définition de l'écart type il résulte que 95 % des observations sont comprises entre 0,166 et 0,238 g/l (0,202 + ou - 2 x 0,018).

TABLEAU VIII

Rapport $\frac{\text{Natrémie}}{\text{Kaliémie}}$ des moyennes des valeurs correspondantes
aux diverses prises de sang d'un même animal.

Animal	$\frac{\text{Natrémie}}{\text{Kaliémie}}$	Animal	$\frac{\text{Natrémie}}{\text{Kaliémie}}$
1	16,7	18	20,5
2	17,7	19	18,2
3	15,8	20	15,9
5	16,7	21	13,7
6	17,3	22	13
7	14,8	23	13,6
8	14	24	15,7
9	14,3	25	15,7
10	14,3	26	16,9
11	14,8	28	17,3
12	16,5	29	17,6
13	16,3	30	18,7
14	17,1	31	16,8
15	16,4	32	15,2
16	17	33	15,3
17	17,8	34	17,3

Moyenne : 16,2
Maximum : 18,7
Minimum : 13,0
Ecart type : 1,6



5) Précision des mesures.

Au cours des mesures nous avons été amené à contrôler à intervalles réguliers les réponses de l'appareil pour la solution Na (1) ou K (1). La droite d'étalonnage a été établie à partir de la moyenne de tous les contrôles effectués en cours d'opération et les écarts de ces différents contrôles par rapport à leur valeur moyenne permettent de calculer une précision moyenne des mesures.

Pour le sodium nous avons trouvé que les mesures étaient reproductibles à 5 % et pour le potassium à 2 % près. Cette disparité entre les précisions de ces deux types de dosages peut être expliquée par la dilution importante des échantillons pour le dosage du sodium et par le fait aussi que l'émission du sodium est extrêmement importante en regard de la sensibilité de notre appareil, ce qui avait conduit à utiliser une largeur de fente trop faible pour que l'appareil fonctionne dans les meilleures conditions.

6) Commentaires.

L'examen des tableaux VI et VII montre que chez les bovins la natrémie s'établit en moyenne à 3,23 g. par litre et la kaliémie à 0,202 g. par litre. Ces chiffres diffèrent peu des valeurs moyennes publiées par Kohl : 3,542 g. par litre pour le sodium et 0,180 g. par litre pour le potassium. Nos valeurs sont supérieures de 10 % en ce qui concerne le potassium et inférieures de 10 % pour le sodium.

Mais si l'on tient compte des écarts types que nous avons calculés pour les chiffres de Kohl et pour les nôtres (voir tableau IX) on s'aperçoit que ces différences ne sont pas significatives et qu'il n'y a pas lieu de penser que la méthode de spectrophotométrie de flamme telle que nous l'avons utilisée conduit à des résultats systématiquement différents de ceux que l'on obtient par des méthodes chimiques.

TABLEAU IX

	Sodium				Potassium			
	Min.	Moy.	Max.	Ecart type	Min.	Moy.	Max.	Ecart type
D'après Kohl	3,423	3,556	3,799	0,121	0,154	0,180	0,230	0,022
D'après nos déterminations	2,72	3,23	3,90	0,21	0,152	0,202	0,274	0,018

On peut constater que, d'une manière générale, la natrémie et la kaliémie de ce troupeau homogène et en excellente santé ont été remarquablement constantes puisque aucune des nombreuses déterminations effectuées ne s'éloigne notablement de la valeur moyenne. Ainsi pour la natrémie, de moyenne générale 3,20, les valeurs extrêmes sur 131 déterminations sont : 2,72 et 3,90. De même, dans le cas du potassium de moyenne générale 0,200, les valeurs extrêmes sont : 0,152 et 0,274.

Ce resserrement des valeurs autour de la moyenne se traduit par la forme « en clocher aigu » des histogrammes correspondants ; on peut le caractériser en calculant les « indices de dispersion relative » définis par le rapport de l'écart type à la moyenne exprimé exprimé en % :

$$\text{soit } \frac{0,21}{3,23} = 6,5 \% \text{ pour la natrémie}$$

$$\text{et } \frac{0,018}{0,202} = 8,9 \% \text{ pour la kaliémie}$$

Ces indices sont particulièrement faibles.

On notera en outre que les valeurs moyennes correspondent aux fréquences maxima dans les deux histogrammes : ce fait implique une symétrie en accord avec l'hypothèse que la natrémie et la kaliémie sont vraisemblablement des grandeurs distribuées de façon normale, suivant une courbe de Gauss, dans une population animale homogène.

En dehors des variations d'un individu à l'autre, dont on vient de constater qu'elles sont remarquablement faibles, on pourrait se demander si les données recueillies permettent de mettre en évidence, pour un sujet donné, des variations en fonction du temps.

Après avoir comparé entre elles les 5 valeurs portées sur chaque ligne du tableau des natrémies ou des kaliémies, nous ne pensons pas pouvoir donner une réponse positive à cette question : si l'on se réfère aux moyennes relatives des tableaux on ne peut que constater la fixité des grandeurs étudiées au cours des quatre mois de la période d'observation.

D'autre part on pourrait étudier les résultats obtenus sous l'angle de relations possibles entre natrémie et kaliémie. Le rapport

natrémie

_____ a été calculé (tableau VIII) pour les 32 sujets : ce rapport kaliémie

oscille entre 13,0 et 18,7 et ses variations autour de la moyenne 16,2 sont faibles (écart type : 1,6).

Le même rapport établi à partir des expressions en mEq prend la valeur 27,5 et indique que le sérum de bœuf contient en moyenne 27,5 ions sodium pour un ion potassium. Chez l'homme ce rapport est voisin de 28,4.

Enfin il paraissait intéressant de vérifier s'il existait au contraire une sorte de compensation possible des ions d'une catégorie par ceux d'une autre ; en d'autres termes nous avons recherché si les sujets qui avaient montré de façon constante une natrémie élevée ne présentaient pas systématiquement une kaliémie faible et réciproquement.

Nous avons groupé dans le tableau X les observations concernant les sujets qui ont fourni :

- 1) 3 prises de sang au moins présentant des valeurs toutes trois ou supérieures ou inférieures à la moyenne générale.
- 2) une valeur moyenne des 3, 4 ou 5 prises de sang (dernière colonne) différente de la moyenne générale d'au moins un écart type (0,21 g pour la natrémie, 0,018 g pour la kaliémie).

TABLEAU X

Animal N°	Natrémie moyenne =	Kaliémie moyenne
1	3,51 (+ +)	0,210 (+)
9	3,02 (— —)	0,210 (+)
17	3,54 (+ +)	0,198 (—)
19	3,51 (+ +)	0,192 (—)
20	2,89 (— —)	0,181 (—)
21	2,96 (— —)	0,216 (+)
30	3,50 (+ +)	0,187 (—)
10	3,16 (—)	0,220 (+ +)
18	3,49 (+)	0,170 (— —)
20	2,89 (—)	0,181 (— —)
22	3,08 (—)	0,236 (+ +)
23	3,04 (—)	0,222 (+ +)

On peut constater que sur 11 sujets répondant aux conditions précédentes :

- 3 (N° 17 - 19 - 30) qui présentent une natrémie très élevée (++) ont une kaliémie abaissée (—).
- 2 (N° 9 - 21) qui présentent une natrémie très faible (— —) ont une kaliémie élevée (+). Celui (N° 18) qui présente une kaliémie très basse (— —) a une natrémie élevée (+).
- 3 (N° 10 - 22 - 23) qui présentent une kaliémie très élevée ont une natrémie faible.

Ainsi, à 2 exceptions près (N° 1 - 20), on peut constater un certain balancement entre ces deux grandeurs, l'accroissement de l'une entraînant une tendance de l'autre à s'abaisser et réciproquement.

Il est cependant facile de constater qu'il ne s'agit là que d'une faible tendance incompatible avec l'hypothèse du strict remplacement d'un ion par un autre pour assurer par exemple la fixité de la pression osmotique.

CONCLUSIONS

1. — La connaissance de la natrémie et de la kaliémie normales chez le bœuf exige des déterminations systématiques et nombreuses pratiquées sur le sang d'animaux en parfaite santé. La technique de photométrie de flamme que nous avons utilisée semble convenir parfaitement pour de tels dosages effectués en séries avec le minimum de manipulations.

2. — Nos déterminations ont porté sur les sérums de 32 sujets mâles de race normande âgés de 8 à 16 mois. Ces animaux qui pesaient de 200 à 250 kilos au début des observations ont été gardés en stabulation permanente et nourris exclusivement de foin de prairie. Chacun d'eux a fait l'objet de 5 prises de sang échelonnées sur une période de 3 mois.

3. — Les 262 analyses réalisées suivant la technique décrite ont montré que, chez le bœuf en bonne santé :

a) la natrémie, en moyenne de 3,23 g/l de sérum, est comprise entre 2,72 et 3,90 g/l (valeurs extrêmes) et s'établit pour plus de 95 % des individus entre 2,81 et 3,64 g/l.

b) la kaliémie, en moyenne de 0,202 g/l de sérum, est comprise entre 0,152 et 0,274 g/l (valeurs extrêmes) et s'établit pour plus de 95 % des individus entre 0,166 et 0,238.

4. — La critique statistique de l'ensemble des résultats obtenus fait ressortir :

a) la très faible amplitude des variations individuelles.

b) la constance de la natrémie et de la kaliémie individuelles pendant une période de 3 mois.

Vu :

LE DIRECTEUR DE L'ECOLE
VETERINAIRE DE LYON

TAPERNOUX

LE PROFESSEUR
DE L'ECOLE VETERINAIRE
COLLET

LE DOYEN DE LA FACULTE
DE MEDECINE DE LYON

HERMANN

LE PRESIDENT DE LA THESE
CHAMBON

Vu et permis d'imprimer :

LYON, le 4 janvier 1961.

LE RECTEUR, PRESIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITE :

M. Pierre LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — ABDERHALDEN (R.). — Schweiz Med. Woch., 1945, 75, 281.
- 4 — BOULANGER. — Le sodium et le potassium dans l'organisme.
Exposés annuels de biochimie médicale. Sixième Série. 1946, 119-73.
- 9 — CHAMBON (M.). — Nouvelle méthode gazométrique de dosage du potassium.
Bull. Soc. Chim., Mémoires, 1941, 8, 700.
- 11 — Colloque international sur la physiopathologie du potassium.
La Presse Médicale. 1954, 62, 1233.
- 15 — DARRASPEN (E.), FLORIO (R.), JOUBERT (L.), COTTEREAU (Ph.) et DEBEAUVAIS (H.). — Perturbations ioniques sanguines au cours des diarrhées des veaux.
Bulletin de la Société des Sciences Vétérinaires de Lyon. 1959, N° 4, 189, 96.
- 14 — DEBEAUVAIS (H.). — Contribution à l'étude des électrolytes du sang chez les bovins. Leur variation au cours des diarrhées des veaux.
Thèse Doct. Vét. Lyon, 1958.
- 16 — DORCHE et coll. — Ann. Pharm. Franç., 1955, 13, 283 - 7 et 1955, 13, 288 - 97.
- 8 — FLEURY (P.). — Fiches techniques de chimie biologique.
Editions Vêga, Paris, 1946.
- 7 — KOHL. — Etude comparée de la composition chimique du sang de mammifères domestiques et de laboratoire.
Thèse pharmacie, Paris, 1950.
- 13 — Mc SHERRY (B. J.) et GRINYER. — American J. Vet. Research - 1954, XV, 57, 535.
- 10 — MURAIRES. — Chimie analytique - 1957, 39, 184 - 8.
- 2 — OBERST. — J. of. biol. Chem., 108, 153 - 150, 1935.
- 3 — RASZEJA. — Bull. Soc. Chim. Biol. - 19, 593 - 601, 1937.
- 5 — RLNE, S. MACH et Evelyn MACH. — Exposés annuels de biochimie médicale. 18ème série, année 1956.

- 17 — TAPERNOUX (A.) et MAGAT (A.). — Détermination par photométrie de flamme de la natrémie et de la kaliémie normales du bœuf. Société de Biologie de Lyon, 28 nov. 1960.
- 12 — TREMOLIERES (J.) et DERACHE (R.). — Données actuelles sur le métabolisme du sodium et du potassium. La presse médicale, 1954, 62, 534.
- 6 — WISE (G. H.) et coll. — Changes in cell volume and in concentration of hemoglobin and of several inorganic constituents of the blood of calves during early postnatal development. Jour. Dairy Sci., 1947, 30, 983 - 93.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	11
Chapitre I :	
Natrémie et kaliémie du bœuf	15
Chapitre II :	
La spectrophotométrie de flamme	21
Chapitre III :	
Recherches personnelles	27
CONCLUSIONS	39
BIBLIOGRAPHIE	41

